

Parasitologie

STRESS OXYDATIF ET PALUDISME

A propos de 24 observations de paludisme à *Plasmodium falciparum*

Par F. DJOSSOU, M. C. RECEVEUR, E. PEUCHANT, E. MONLUN,
M. CLERC, M. LONGY-BOURSIER & M. LE BRAS (1) (2)

Oxidative stress and malaria.

Summary: Oxidative stress has been suggested to be implicated in malaria. But it is not clear whether its major role is to kill intraerythrocytic parasites or to cause damage to host tissues.

We have studied it in 24 European subjects hospitalized in Saint-André hospital, Bordeaux, France for *Plasmodium falciparum* access returning from a tropical trip, and in a group control of 16 subjects.

Malondialdehyde, one of the oxidative stress markers is significantly increased in patients compared to the control group ($m = 5.24$ vs 2.14 mol/l).

At the same time, it is observed a significant decrease in antioxidant factors, vitamin A and vitamin E.

We found no relationship of the severity of malaria to the importance of the oxidative stress, and the question whether the oxidative stress attack host tissues or kill parasites remains entire.

These observations should be completed by larger studies, particularly to improve malaria treatments available nowadays.

Résumé : Le stress oxydatif est impliqué à plus d'un titre dans les accès palustres. Mais la question de savoir s'il est protecteur ou vulnérant se pose, et le rôle joué par les antioxydants (vitamines A et E surtout) doit être précisé dans un but de thérapeutique éventuelle.

Notre étude a porté sur 24 sujets européens présentant un tel accès à *Plasmodium falciparum*, au retour d'un séjour en zone tropicale, comparés à 16 témoins en bonne santé.

Le niveau de malondialdéhyde, un des principaux marqueurs du stress oxydatif dosable au niveau du sang périphérique, est significativement plus élevé chez les malades que dans le groupe témoin ($m = 5,24$ vs $2,14$ mmol/l).

Parallèlement, on note une décroissance significative des facteurs antioxydants, vitamine A et vitamine E, chez les patients.

Nous n'avons pas pu mettre en évidence de corrélation entre l'importance du stress oxydatif et la gravité du paludisme, et la question reste posée de savoir à qui (le parasite ou l'homme?) le stress oxydatif est le plus nuisible au cours du paludisme. Ces observations mériteraient selon nous d'être étudiées plus largement, notamment afin d'améliorer l'arsenal antipaludique actuel.

INTRODUCTION

L'oxygène, facteur indispensable à la vie aérobie, génère dans certaines circonstances physiologiques et pathologiques des formes radicalaires toxiques, les radicaux libres oxygénés (RLO) dont les plus importants sont : l'anion superoxyde ($\cdot O_2^-$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyde ($\cdot OH$).

L'organisme dispose de moyens de défense : enzymatiques (la superoxyde dismutase, la catalase, les glutathion peroxydase et réductase), et non enzyma-

tiques (les vitamines A, E, C, K, les thiols, le sélénium, les quinones...) pour éliminer ces radicaux libres oxygénés au fur et à mesure de leur production.

Dans certaines conditions, il se crée un déséquilibre entre les dérivés radicalaires (oxydants) et les systèmes de défense (antioxydants) par production excessive de RLO ou par insuffisance des moyens de défense : c'est ce qui définit le stress oxydatif (3).

L'action de l'excédent de RLO met en jeu d'autres systèmes cellulaires tels que les membranes, les acides nucléiques et les protéines, à l'origine des peroxydations lipidiques, des inactivations enzymatiques, des mutagenèses (5, 12, 14, 17, 35, 36) et donc de l'intervention en pathologie.

(1) Univ. Bordeaux II, 146, rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux Cedex.
(2) Manuscrit n° 1571. Parasitologie. Accepté le 22 février 1996.

La liperoxydation est le volet du stress oxydatif le plus accessible quantitativement (36); c'est aussi le volet le plus évoqué actuellement en physiopathologie.

Plusieurs études *in vitro* (21, 46), *in vivo* chez l'animal (la souris principalement) (1, 2, 22-27) et peu chez l'homme (11, 44) se sont intéressées à l'évolution du niveau de stress oxydatif au cours du paludisme. Elles ont montré qu'au cours de la maladie, il y a une élévation du niveau de liperoxydation mesurée par le taux de malondialdéhydes (MDA) et une baisse du système antioxydant. L'élévation du taux de MDA semble d'autant plus importante que la parasitémie est élevée (39). Mais ceci ne permet pas de déterminer la valeur pronostique du stress oxydatif au cours du paludisme; car si le stress oxydatif intervient dans la physiopathologie de la maladie (8), il sert aussi de moyen de lutte contre le parasite (9).

Nous proposons dans ce travail d'évaluer l'intensité du stress oxydatif et la diminution des systèmes de défense chez les sujets paludéens en phase aiguë de la maladie; nous rechercherons la relation entre le niveau de stress oxydatif et la présence de signes de paludisme grave (47); cette relation, si elle existe, permettrait de répondre à la question de savoir si, en fin de compte, le stress oxydatif est vulnérant ou protecteur pour l'homme.

MALADES ET MÉTHODES

Les malades (tableau I)

L'étude a concerné 24 Européens (14 hommes, 10 femmes, moyenne d'âge 43 ± 11 ans), ayant présenté au retour d'un voyage en zone tropicale, une fièvre élevée ($\geq 39,5^\circ$) et qui ont été hospitalisés dans le service de médecine tropicale de l'hôpital Saint-André de Bordeaux. Le voyage, pour l'ensemble des patients, s'est déroulé dans une région classée dans un groupe 2 ou 3 de chloroquino-résistance. La chimioprophylaxie antipalustre était totalement absente dans 12 cas; 4 malades prenaient quotidiennement 100 mg de chloroquine et 200 mg de proguanil dès le début de leur voyage; pour les autres, la chimioprophylaxie était incomplète: chloroquine seule (6 cas) et proguanil seul (2 cas).

Le diagnostic de paludisme à *Plasmodium falciparum* a été fait par frottis sanguin: 7 patients présentaient un signe de paludisme grave (1 cas d'ictère, 2 cas d'obnubilations, 1 cas de CIVD, 2 cas de syndrome méningé, 1 cas d'insuffisance rénale et hépatique) (47).

Ils ont été traités soit par halofantrine (16 cas), soit par quinine intraveineuse (8 cas dont 3 en raison d'une grossesse et 5 en raison de signes de neuropaludisme) (tableau I).

Tab. I. — Données cliniques (malades).

	âge	sexe	lieu séjour	chimioprophylaxie	traitement	autres obs.
1-AME	49	M	Togo	proguanil	halofantrine	céphalées
2-MOU	29	F	Cameroun	0	halofantrine	
3-MER	48	M	Guyane	0	halofantrine	ictère
4-BAP	52	M	Yemen	0	halofantrine	céphalées
5-BAS	57	M	Yemen	0	halofantrine	céphalées
6-CHA	59	M	Madagascar	0	halofantrine	
7-PRO	42	F	Cameroun	chloroquine	quinine I.V.	grossesse
8-MON	31	F	RCI	0	quinine I.V.	grossesse
9-ROU	49	F	Guinée	0	halofantrine	hépatalgies
10-ARD	16	F	Guinée	chloroquine	halofantrine	tr. digestifs
11-LAF	39	M	Cameroun	chloroquine + proguanil	quinine I.V.	obnubilations
12-CON	38	M	Bénin	0	halofantrine	céphalées
13-BAT	29	F	Congo	chloroquine	quinine I.V.	grossesse
14-SAI	39	M	Gabon	0	quinine I.V.	CIVD
15-DEL	53	M	Sénégal	chloroquine + proguanil	halofantrine	sd. méningé
16-DUR	53	M	Bénin	chloroquine	quinine I.V.	ins. rén. + hép.
17-GNA	42	F	RCI	0	halofantrine	céphalées
18-TOG	21	F	Mali	chloroquine	halofantrine	céphalées
19-BAY	25	F	Congo	0	quinine I.V.	sd. méningé
20-LAR	57	M	Sierra Léone	0	quinine I.V.	obnubilations
21-SOU	32	M	Sierra Léone	chloroquine + proguanil	halofantrine	HSM
22-LAP	48	M	Guinée	proguanil	halofantrine	céphalées
23-DUF	58	M	Kenya	chloroquine + proguanil	halofantrine	céphalées
24-BRU	58	F	Kenya	chloroquine	halofantrine	céphalées

Le groupe témoin

Il était constitué de 16 sujets sains (10 femmes et 6 hommes, moyenne d'âge 46 ± 10 ans). Ces sujets n'étaient pas fumeurs. Ils n'étaient pas alcooliques; ils ne présentaient aucune pathologie du métabolisme lipidique, aucune affection récente de nature inflammatoire ou infectieuse.

Méthodes

Étude biochimique

Un prélèvement de 20 ml de sang par voie veineuse périphérique a été effectué chez les malades (dès le résultat du frottis sanguin) et les sujets du groupe témoin. Sur ce prélèvement, il a été pratiqué le dosage :

— des malondialdéhydes (MDA) par la méthode spectrophotométrique de YAGI (50);

— de la rétinolémie et de la vitaminémie E par méthode HPLC (High Performance Liquid Chromatography) (« C 18 microbondapack utilisant une colonne faite d'un mélange méthanol/eau (98,5/1,5 V/V) » comme phase mobile, et une détection spectrophotométrique à 290 nm) (45);

— des protéines de l'inflammation (orosomucoïde, C réactive protéine, haptoglobine) par le néphélomètre de Behring (BNA) avec des antisérums correspondants (LN-SAW 05, LN-SCD 05 respectivement).

Étude statistique

Le traitement statistique des données a été fait à l'aide du logiciel Expresso.

Il a été procédé à l'étude de la distribution des différents paramètres (détermination de la moyenne, détermination de l'écart-type) chez les patients et les sujets du groupe témoin.

La comparaison entre les 2 groupes est obtenue par le test U de Mann-Whitney.

Dans le groupe des malades :

— les coefficients de corrélation ont été calculés (coefficient de corrélation des rangs ou coefficient de Spearman) entre :

. la parasitémie d'une part et les protéines inflammatoires, les valeurs des MDA, les vitaminémies A et E d'autre part,

. les valeurs des MDA d'une part et les vitaminémies A et E d'autre part;

— enfin le test U de Mann-Whitney a été utilisé pour comparer les valeurs des MDA en fonction de la présence ou non de signes de paludisme grave d'une part, et en fonction de la prise ou non de chimioprophylaxie d'autre part.

RÉSULTATS

Les résultats biologiques sont présentés dans le tableau II pour les malades et le tableau III pour les témoins; le tableau IV récapitule les résultats statistiques.

Les valeurs des MDA plasmatiques sont significativement plus élevées chez les malades que chez les témoins ($p < 0,001$).

Il en est de même pour les protéines inflammatoires comme la CRP ($p < 0,001$) et l'orosomucoïde ($p < 0,001$). On n'observe pas, par contre, de différence significative entre les valeurs de l'haptoglobine chez les malades et les témoins.

En ce qui concerne les systèmes antioxydants, on note une diminution significative de la vitaminémie A ($p < 0,001$) et de la vitaminémie E ($p < 0,02$) chez les paludéens par rapport aux témoins.

Il n'est trouvé aucune corrélation entre l'augmentation des valeurs de MDA mesurées chez les malades d'une part et les valeurs des vitaminémies A et E, l'existence ou non de signes de paludisme grave, la prise ou non de chimioprophylaxie d'autre part.

La parasitémie est corrélée avec le taux de bilirubine conjuguée ($p < 0,01$); elle n'est par contre corrélée ni avec aucune protéine inflammatoire (CRP, orosomucoïde, haptoglobine), ni avec les valeurs des MDA, ni avec les vitaminémies A et E.

DISCUSSION

De notre étude, il ressort qu'au cours du paludisme, il y a une élévation significative de la lipoperoxydation associée à une diminution importante des vitamines A et E probablement par consommation, et une élévation concomitante du taux des protéines inflammatoires CRP et orosomucoïde, sans corrélation avec la parasitémie. Cette absence de corrélation pourrait s'expliquer par la séquestration des *Plasmodium* dans les capillaires viscéraux qui rend inexacte la parasitémie comme reflet de la charge parasitaire et donc de l'intensité de la maladie.

La présence de signes de paludisme grave chez quelques malades (7 cas) ne semble pas influencer le niveau du stress, mais le faible effectif limite la valeur de ce résultat.

L'absence d'élévation significative du taux d'haptoglobine chez les malades peut s'expliquer par le rôle de cette protéine à capter la bilirubine conjuguée lors de l'hémolyse. Or certains de nos malades présentaient une hémolyse importante justifiant leurs faibles taux d'haptoglobine malgré la réaction inflammatoire.

Ces résultats méritent d'être comparés aux données de la littérature. Mais en l'absence de données suffisantes sur *P. falciparum* chez l'homme, nous

